

金缕半枫荷多酚提取及其抗氧化抗菌活性研究

廖娜, 韦柳斌, 金旺, 韦启球, 陈洁, 伍善广*

(广西科技大学, 广西 柳州 545006)

摘要: 为了为进一步开发和利用金缕半枫荷, 以超声时间、液料比、乙醇体积分数和超声温度为考察因素, 以金缕半枫荷总多酚提取率为评价指标, 采用单因素和正交试验优化提取工艺, 确定最佳工艺, 以最佳工艺制备金缕半枫荷多酚。进一步采用 DPPH· 和羟自由基清除法, 评价金缕半枫荷多酚的抗氧化能力; 以抑菌圈和最小抑菌浓度 (MIC) 为指标, 采用牛津杯和肉汤稀释法考察其抗菌活性。结果表明, 最佳提取工艺为乙醇浓度为 70%, 料液比 1 : 16, 提取时间为 60 min, 提取温度 60 ℃。金缕半枫荷多酚清除 DPPH· 自由基的 IC₅₀ 为 5.22 μg·mL⁻¹, 与阳性对照维生素 C 的 IC₅₀ 值 4.31 μg·mL⁻¹ 无显著差异, 羟自由基清除率 IC₅₀ 为 105 μg·mL⁻¹ 显著低于维生素 C 的 IC₅₀ 值 180 μg·mL⁻¹; 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌具有抑制作用, 抑菌圈直径分别为 (13.7 ± 1.2) mm 和 (10.0 ± 1.3) mm, MIC 分别为 0.393 和 0.785 mg·mL⁻¹。研究结果表明, 金缕半枫荷多酚具有抗菌和显著抗氧化能力, 为开发利用金缕半枫荷资源提供理论依据。

关键词: 金缕半枫荷, 多酚, 抗氧化能力, 抗菌活性, DPPH·, 羟自由基

中图分类号: Q946 文献标识码: A

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201801023

Extraction technology and the antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from *Semiliquidambar cathayensis*

LIAO Na, WEI Liu-Bing, JIN Wang, WEI Qi-Qiu, CHEN Jie, WU Shan-Guang*

(Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, Guangxi, China)

收稿日期: 2018-03-21

基金项目: 国家自然科学基金 (21766003); 广西壮族自治区高等学校科学研究项目 (KY2015YB179); 广西高校大学生创新创业训练计划项目 (201610594191)。[Supported by National Natural Science Foundation of China (21766003); Research Program of Science at Universities of Guangxi Autonomous Region (KY2015YB179); Undergraduate Training Program for Innovation and Entrepreneurship (201610594191).]

作者简介: 廖娜(1980-), 女(壮族), 广西武宣, 博士, 助理研究员, 从事植物资源开发与利用研究, (E-mail) 43283280@qq.com。

*通信作者: 伍善广, 博士, 教授, 研究方向为药剂学, (E-mail) 510242227@qq.com。

Abstract: In order to develop and utilize *Semiliquidambar cathayensis*, Orthogonal Design was used to explore the effects of ethanol content, liquid to solid ratio, extraction time and temperature. Moreover, the DPPH· and hydroxyl radical scavenging activities of the polyphenols were also investigated. The inhibition zone and minimal inhibitory concentration (MIC) were used to detect the antibacterial activities, and determined by Oxford Cup method and broth dilution method. The results showed that the best extraction condition were as follows: ethanol content of 70%, the solid to liquid ratio of 1:16, the extraction time of 60 min, and the extraction temperature of 60 °C. In addition, there was no significant difference of the IC₅₀ value of DPPH· free radical scavenging between the polyphenols' 5.22 µg·mL⁻¹ and the ascorbic acid's 4.31 µg·mL⁻¹. And the IC₅₀ value 105 µg·mL⁻¹ of hydroxyl free radical scavenging of the polyphenols is significantly lower than ascorbic acid's 180 µg·mL⁻¹. The results also showed that the polyphenols had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* with the antibacterial circle are (13.7 ± 1.2) mm and (10.0 ± 1.3) mm, respectively. And the MIC are 0.393 and 0.785 mg·mL⁻¹, respectively. This research could provide the theoretical basis for further development and utilization of *Semiliquidambar cathayensis* resources.

Key words: *Semiliquidambar cathayensis*, polyphenols, antioxidant capacity, antibacterial activities, DPPH·, hydroxyl radical

金缕半枫荷 (*Semiliquidambar cathayensis*)，又名半枫荷，为金缕梅科半枫荷属植物，分布于江西、贵州、广东、海南及广西等地（黄东挺等，2012）。该药材被《全国中草药汇编》和《中国民族药志要》收载，其根、茎、叶均可入药，性味甘、淡、温，具祛风除湿、活血消肿之功。在广西民间用于抗风湿、治疗腰肌劳损、跌打痕积等（杨丽等，2016）。近年来，由于金缕半枫荷独特的临床功效，引起部分学者的关注，并取得良好的研究成果。早在 1999 年，杨武亮等学者发现，金缕半枫荷根的醇提物具有镇痛、抗炎作用（杨武亮等，1999）。2002 年，周光雄等学者从金缕半枫荷根的乙酸乙酯萃取部位分离鉴定的 9 个化合物（周光雄等，2002）。随后，有文献报道了从金缕半枫荷根的石油醚部位和乙酸乙酯部位的化学成分（卢海啸等，2015）。最近，韦春玲等学者的研究发现，以反式-白藜芦醇葡萄糖苷作为标准品的 HPLC 法测定总多酚的含量，采用不同溶剂的超声、回流多种提取法，优选半枫荷多酚提取工艺，总多酚的提取率最高为 2.67%（韦春玲等，2017）。

多酚是植物体内的多元酚类次生代谢产物，广泛存在于植物的根、皮、茎、花、叶、果实中。大量研究结果表明，多酚具有抗氧化、抗菌、抗病毒等生物活性(Gonzalez et al, 2017)。当前，食品药品安全问题已经成为国内外的广泛关注焦点。市场上使用的化学合成抗氧化剂具有引起肝脏损伤，甚至诱发癌症等副作用(Kupfer et al, 2002；张声源等，2017)。天然抗氧化剂由于其安全性，倍受人们的青睐。因此，寻找天然抗氧化剂已成为国内外的研究热点(冯学珍等，2017；Todaro et al, 2017)。

金缕半枫荷在广西民间用于抗风湿抗炎等作用。风湿炎症与机体的自由基过量紧密相关(Floyd et al, 2011)。金缕半枫荷用于治疗跌打损伤。治疗跌打损伤药物具有控制伤口感染的功效。因此，推测金缕半枫荷中含有抗氧化抗菌成分。到目前为止，还未见到关于金缕半枫荷多酚抗菌抗氧化的系统研究。本研究以没食子酸为评价指标，正交试验优选金缕半枫荷多酚超声提取工艺，通过 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH·) 和羟自由基清除法来评价其抗氧化能力，并通过抑菌圈和最小抑菌浓度 (MIC) 考察其抗菌活性，为金缕半枫荷药用提供了数据信息。

1. 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

金缕半枫荷 2016 年采自广西武宣，经湖北第二师范学院戴月副教授鉴定。

1.1.2 仪器与试剂

仪器：T6 新世纪 UV-可见分光光度计；RE-52AA 旋转蒸发器；牛津杯（8 mm × 6 mm × 100 mm）；SW-CJ-2F 超净工作台；VGT-1990QTD 超声波清洗器；SPX-60BSH-II 生化培养箱等。

试剂：没食子酸对照品购于百灵威科技有限公司；DPPH·购于 Sigma-Aldrich 化学试剂公司；大肠杆菌 ATCC 25922、金黄色葡萄球菌 ATCC 6538 购于广东省微生物分析检测中心；MH 肉汤（028040）、MH 琼脂培养基（028050）购于广东环凯微生物科技有限公司。其他试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 没食子酸标准曲线绘制

没食子酸标准曲线绘制，采用稍加改良的 Folin-Ciocalteus 比色法(魏欢等，2017)测定金缕半枫荷中总多酚的含量。

1.2.2 供试样品溶液的配制

新鲜金缕半枫荷枝干，风干，粉碎，备用。准确称取 1.0 g 样品于 50 mL 圆底烧瓶中，加入一定比例乙醇溶液，超声提取，在 4000 × g 转速下离心 5 min，上清液，移至 100 mL 容量瓶中，并用乙醇定容。以空白对照作为参比液，于 750 nm 处测定吸光度，并由标准曲线回归线性方程计算多酚的含量。

$$\text{提取率 (\%)} = \frac{c \times D \times V}{m} \times 100 \tag{1}$$

1.2.3 单因素试验对总多酚提取率的影响

超声时间、液料比、乙醇体积分数和超声温度 4 个因素进行单因素试验，考察这 4 个因素对提取率及总多酚含量的影响。

1.2.4 正交试验

以总多酚含量为指标，超声时间、液料比、乙醇体积分数和超声温度为因素进行正交试验，正交试验设计如表 1 所示。

表 1 正交试验设计因素及水平

Table 1 The factors and levels of orthogonal experimental design

水平	因素			
Level	Factors			
	A	B	C	D
	乙醇体积分数	液料比	提取时间	提取温度
	Ethanol content	Liquid-to-solid ratio	Extraction time	Extraction
	(%)	(g·mL ⁻¹)	(min)	temperature (°C)
1	50	1:16	40	50
2	60	1:18	50	55
3	70	1:20	60	60

1.2.5 DPPH·自由基清除性能测定

经过改良的方法（张声源等，2017），在不同浓度金缕半枫荷总多酚样液中加入无水乙醇配制的 1.0×10⁻⁴ mol·L⁻¹ DPPH·溶液，室温静置 20 min，维生素 C 作为阳性对照，于 517 nm 处测定吸光度。每个样品做 3 个平行试验，取平均值。并根据公式（式 2）计算出样品和

维生素 C 溶液对 DPPH·自由基的清除率。

$$\text{清除率 (\%)} = \frac{1 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

其中, A_0 为 1.0 mL $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DPPH·无水乙醇溶液与 1.0 mL 无水乙醇混合后在波长 517 nm 处的吸光度; A_i 为 1.0 mL 不同质量浓度的样品和维生素 C 溶液, 再分别加入 1.0 mL $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DPPH·无水乙醇溶液, 室温避光反应 20 min, 以无水乙醇溶剂做空白对照, 测定其在波长 517 nm 处的吸光度; A_j 为定 1.0 mL 无水乙醇溶液与 1.0 mL 样品溶液在波长 517 nm 处的吸光度。

1.2.6 羟自由基清除能力测定

羟自由基清除能力测定参照 Zhu et al (2017) 的方法, 依次向试管中加入 1.0 mL $0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的邻二氮菲溶液, 加入 2.0 mL PBS 和 1 mL 蒸馏水, 混匀, 接着加入 1.0 mL $0.75 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸亚铁溶液和 1.0 mL 0.01% 过氧化氢, 37°C 保温 60 min, 于 510 nm 处测得吸光度为 A_p ; 用 1.0 mL 蒸馏水代替 1.0 mL 过氧化氢, 测得吸光度为 A_B , 1.0 mL 不同浓度金缕半枫荷多酚样品溶液代替蒸馏水, 测得吸光度 A_s 。采用下式计算半枫荷多酚样品对羟自由基的清除率。

$$\text{清除率} = \frac{A_s - A_p}{A_B - A_p} \times 100\% \quad (3)$$

1.2.7 抑菌圈测定

抑菌圈测定实验方法参照 Zhang et al (2017), 具体操作如下, 将已灭菌的 MH 培养基在无菌条件下, 倒入灭菌培养皿, 培养基冷凝后, 均匀涂布 0.1 mL 菌悬液。每个培养皿放置 6 个牛津杯, 每个牛津杯中加入 100 μL 样品。设定金缕半枫荷多酚组, $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 链霉素阳性对照组, DMSO 溶液阴性对照组。于 37°C 培养箱中培养 24 h, 测定抑菌圈。每组实验重复 3 次。

1.2.8 MIC 的测定

MIC 的测定采用肉汤稀释法(缪文玲等, 2017), 将金缕半枫荷多酚溶液和液体培养基于试管中配成质量浓度分别为 25.0, 12.5, 6.25, 3.13, 1.57, 0.785, 0.393, 0.197 和 $0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 每支试管中加入 100 μL 菌悬液, 所有试管于 37°C 恒温培养 18 h, 当阳性对照和阴性对照管均符合规定时, 以肉眼观察, 无浑浊者对应的最低药物浓度, 即为受试菌的 MIC。每组实验重复 3 次。

1.2.9 数据处理

实验数据采用 Excel 2010 与 SPSS 20.0 软件进行处理。

2. 结果与分析

2.1 没食子酸标准曲线绘制

采用紫外分光光度计测定系列浓度没食子酸的吸光度, 绘制标准曲线(如图 1 所示), 方程为 $y=0.1141x-0.0013$, $R^2=0.9998$ 。结果表明, 在 $0 \sim 5.05 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内没食子酸浓度与吸光度之间有良好的线性关系。

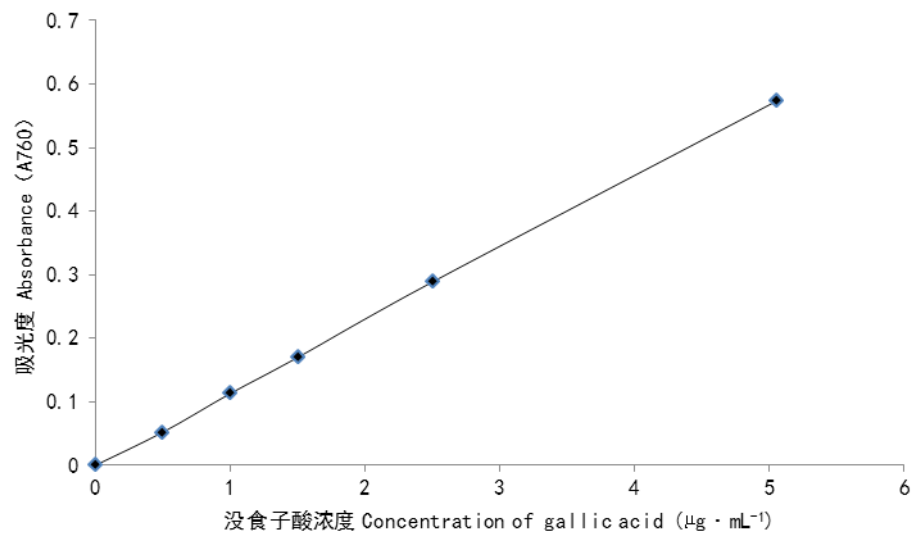


图 1 没食子酸的标准曲线

Fig. 1 Standard curve of gallic acid

2.2 乙醇提取分数对总多酚提取率的影响

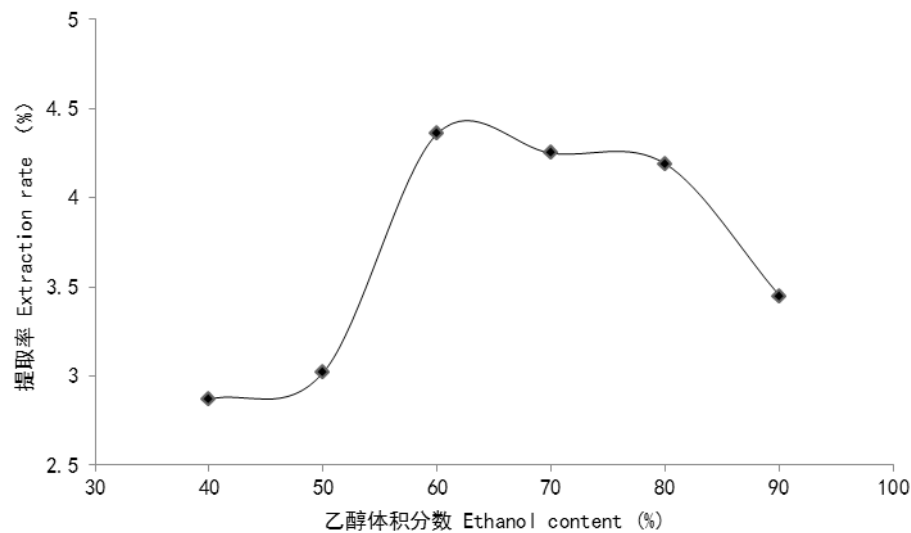


图 2 乙醇体积分数对金缕半枫荷总多酚提取率的影响

Fig. 2 The effect of ethanol content on the yield of total polyphenol from *Semiliquidambar cathayensis*

图 2 中，随着提取溶剂乙醇含量的增加，金缕半枫荷总多酚的提取率出现先上升后下降。当乙醇体积分数为 60% 时总多酚提取率达到峰值，在乙醇体积分数高于 80%，总多酚提取率急剧下降。金缕半枫荷多酚类物质具有的酚羟基而具有一定的极性。根据相似相溶原理，推测当 60% 乙醇的极性与金缕半枫荷多酚极性相似时，溶解度最大。因此，提取率最高。

2.3 液料比对总多酚提取率的影响

保持提取物质量不变，逐步增加提取液体积，金缕半枫荷中总多酚的得率呈现先上升后下降的趋势，液料比 1:14 开始，提取率增长缓慢 1:20 后，总多酚得率下降（图 3）。

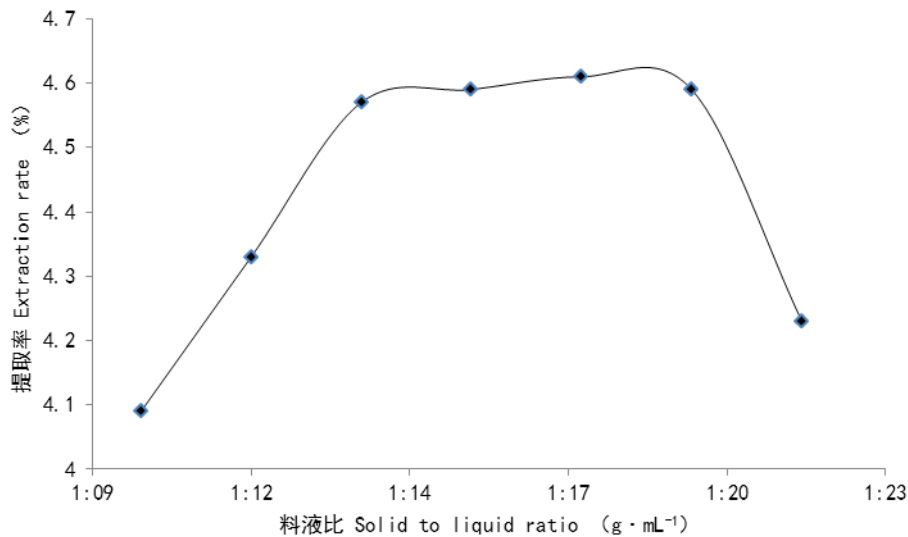


图3 料液比对金缕半枫荷总多酚提取率的影响

Fig. 3 The effect of solid to liquid ratio on the yield of total polyphenol from *Semiliquidambar cathayensis*

2.4 超声提取时间对总多酚提取率的影响

随着提取时间的增长，金缕半枫荷中总多酚的提取率呈现先上升后下降的趋势，超声时间为 50 min 时总多酚提取率达到最高，而后总多酚提取率下降（图 4）。刚开始多酚比较易溶于提取液，先溶出，随超声时间延长，溶液中其他物质的提取率也随着增加，使得溶液饱和，限制多酚的溶出。同时，超声过程中，可能也会破坏多酚的化学结构，导致提取率下降。

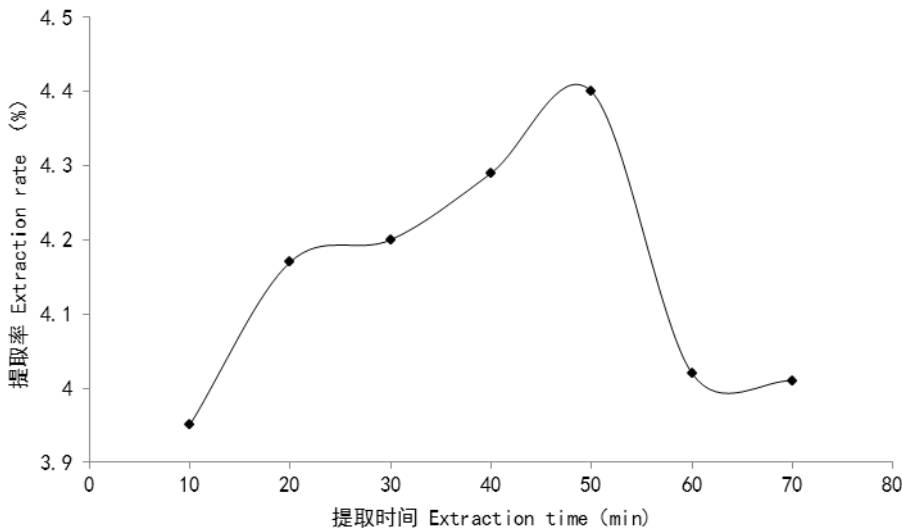


图4 提取时间对金缕半枫荷总多酚提取率的影响

Fig. 4 The effect of extraction time on the yield of total polyphenol from *Semiliquidambar cathayensis*

2.5 提取温度对总多酚提取率的影响

在提取温度 30 ~ 55 °C 范围内，随提取温度升高多酚提取率上升（图 5），说明升高温度对多酚化合物的溶出是有利的。当超过 55 °C 后，多酚得率显著下降，这可能在较高温度下，多酚氧化变质导致多酚得率降低。

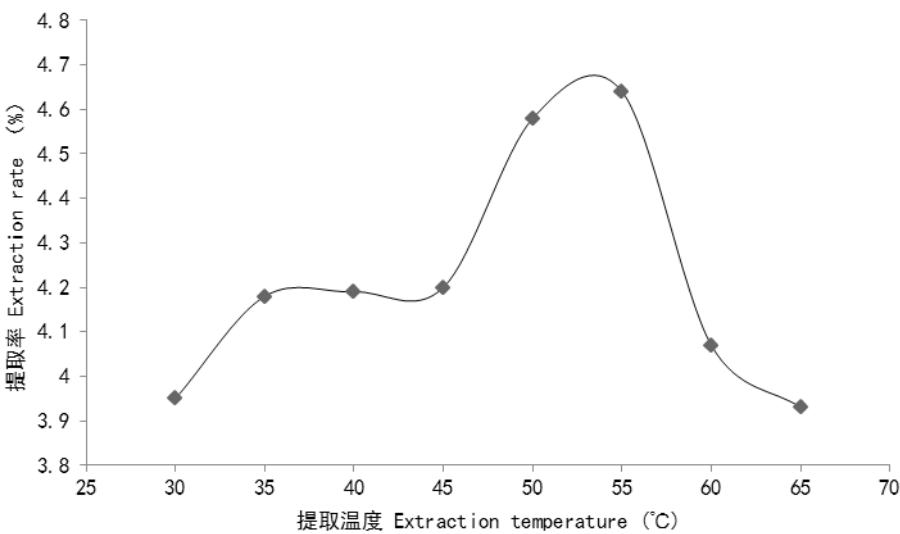


图 5 提取温度对金缕半枫荷总多酚提取率的影响
Fig. 5 The effect of extraction temperature on the yield of total polyphenol from *Semiliquidambar cathayensis*

2.6 正交实验

根据单因素实验结果，选取影响金缕半枫荷总多酚提取因素中有意义的水平做正交实验，并对结果进行极差分析，确定最佳提取工艺条件。采用 $L_9(3^4)$ 正交因子水平表(表 1)，设计 $L_9(3^4)$ 正交实验，实验结果见表 2。

表 2 正交实验优化条件下金缕半枫荷中总多酚得率

Table 2 The yield of total polyphenol from <i>Semiliquidambar cathayensis</i> under orthogonal experiment					
试验号	A	B	C	D	总多酚提取率
	乙醇体积分数	液料比	提取时间	提取温度	
No	Ethanol content	liquid-to-solid ratio	Extraction time	Extraction temperature	The yield of total polyphenol (%)
1	1	1	1	1	4.21
2	1	2	2	2	3.0
3	1	3	3	3	4.90
4	2	1	2	3	4.65
5	2	2	3	1	4.31
6	2	3	1	2	3.51
7	3	1	3	2	5.11
8	3	2	1	3	4.57
9	3	3	2	1	4.48
K ₁	12.11	13.97	12.29	13.0	
K ₂	12.47	11.88	12.13	11.62	
K ₃	14.16	12.89	14.32	14.12	
R	2.05	2.09	2.19	2.51	

由表 2 极差 R 的结果表明，乙醇体积分数、料液比、提取时间、提取温度等 4 个 因素对

金缕半枫荷总多酚提取含量的影响的显著性为：提取温度>提取时间>料液比>乙醇浓度。金缕半枫荷总多酚超声提取的最优水平搭配为 A3B1C3D3，即乙醇浓度为 70%，料液比 1：16，提取时间为 60 min，提取温度 60 ℃为最佳提取工艺。

2.7 金缕半枫荷多酚对 DPPH· 自由基的清除作用

如图 6 和表 3 所示，金缕半枫荷多酚和阳性对照维生素 C 在质量浓度 0.002 ~ 8 μg·mL⁻¹ 范围内均呈现一定的剂量依赖性，对 DPPH· 自由基具有很强的清除能力。

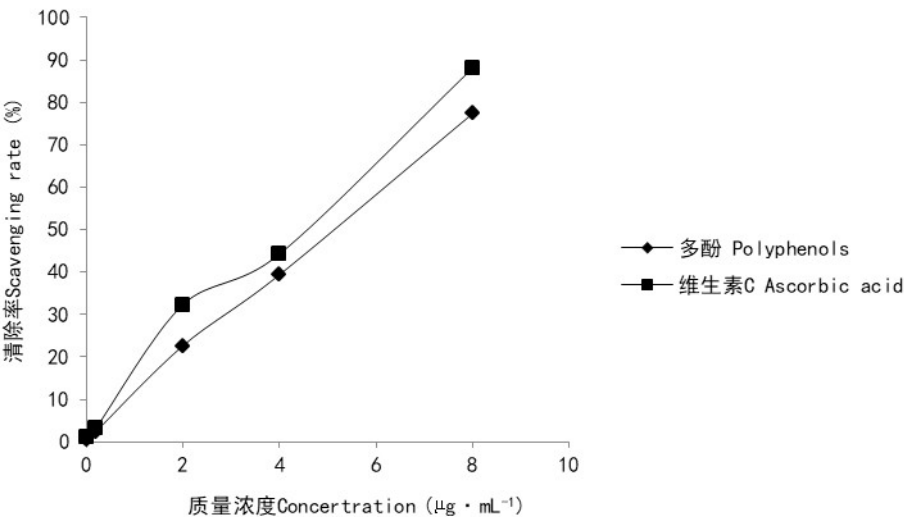


图 6 金缕半枫荷多酚和维生素 C 对 DPPH· 自由基的清除能力

Fig.6 DPPH· radical scavenging ability of Polyphenols from *Semiliquidambar cathayensis* and ascorbic acid

表 3 金缕半枫荷多酚和维生素 C 对自由基清除能力的 IC₅₀

Table 3 IC₅₀ values of radical scavenging ability of ascorbic acid and Polyphenols from *Semiliquidambar cathayensis*

样品	DPPH· IC ₅₀ 浓度
Sample	DPPH· IC ₅₀ values (μg·mL ⁻¹)
维生素 C	4.31
Ascorbic acid	
多酚	5.22
Polyphenols	

2.8 金缕半枫荷多酚对羟自由基的清除作用

金缕半枫荷多酚清除 Fenton 反应产生的羟自由基。如图 7 所示，随着金缕半枫荷多酚的浓度的增加，羟自由基抑制率不断增加。金缕半枫荷多酚浓度在 60 - 160 μg·mL⁻¹ 范围内，对羟自由基抑制率由 7.9% 上升至 90%，羟自由基清除率 IC₅₀ 为 105 μg·mL⁻¹ 显著低于维生素 C 的 IC₅₀ 为 180 μg·mL⁻¹。实验结果表明，金缕半枫荷多酚具有超强的清除自由基能力。

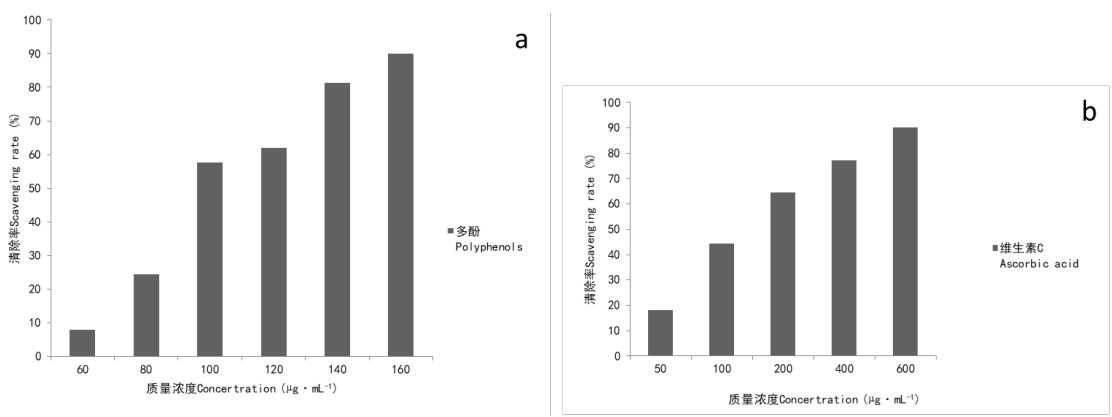


图 7 (a) 金缕半枫荷多酚 (b) 维生素 C 对羟自由基的清除能力
Fig.7 Hydroxyl radical scavenging ability of Polyphenols from *Semiliquidambar cathayensis* (a) and ascorbic acid (b)

2.9 金缕半枫荷多酚抗菌活性

采用了牛津杯法对金缕半枫荷多酚进行了抑菌实验，效果见表 4。金缕半枫荷多酚对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均有抑制作用。其中，对金黄色葡萄球菌多酚抑菌圈直径为（13.7 ± 1.2）mm 略高于大肠杆菌的（10.0 ± 1.3）mm。

表 4 金缕半枫荷多酚的抑菌圈直径
Table 4 Diameter of Inhibition Zone of Polyphenols from *Semiliquidambar cathayensis*

菌种 Strains	多酚抑菌圈直径 Diameter of Inhibition Zone of Polyphenols (mm)	链霉素抑菌圈直径 Diameter of Inhibition Zone of Streptomycin (mm)
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	10.0 ± 1.3	25.3± 2.1
金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>	13.7 ± 1.2	18.5 ± 1.5

金缕半枫荷多酚对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的 MIC 分别为 0.393 和 0.785 mg · mL⁻¹。实验结果表明，金缕半枫荷多酚具有显著的抑菌活性。

表 5 金缕半枫荷多酚对 2 种病原菌的 MIC
Table 5 MIC of Polyphenols from *Semiliquidambar cathayensis* to 2 species of Pathogenic Microorganisms

质量分数/ mg · mL ⁻¹	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>S. aureus</i>
0.197	+	+
0.393	+	-
0.785	-	-
1.57	-	-
3.13	-	-
6.25	-	-
12.5	-	-
25.0	-	-

注：“+”表示有菌落出现；“-”表示没有菌落出现。

Note: ‘+’ bacterial growth and ‘-’ no bacterial growth.

3. 结论与讨论

金缕半枫荷是一种用于治疗风湿痹痛的瑶药，是瑶族人民瑶浴的主要药材。其含有多酚类物质，可能是其药用活性的物质基础。目前，多酚的含量测定的方法有，以没食子酸为标准品，采用酒石酸铁紫外分光光度法(谢倩等，2014)；以反式-白藜芦醇葡萄糖苷为标准品的HPLC法(韦春玲等，2017)及HPLC法(夏雅俊等，2014)。其中，HPLC法由于具有分离效率高、选择性好、检测灵敏度高及操作自动化等优点，被广泛应用于一种或几种多酚成分分析。该法不常用于总多酚含量测定。酒石酸铁紫外分光光度法由于该法受pH影响较大，稳定性不高。福林-酚法测定总多酚的原理为，利用多酚类物质在碱性条件下的还原性，可将磷钨钼酸还原成蓝色，颜色深浅与多酚含量成正相关，可以用分光光度计进行测定。福林-酚法，由于其灵敏度高、仪器设备简单、操作简便、快速准确高，重现性好，广泛应用于植物多酚的含量测定。本研究以没食子酸为标准品，福林-酚法测定金缕半枫荷总多酚，采用单因素和正交试验优化超声提取工艺，总多酚提取率为5.11%（表2），大大高于文献值2.67%（韦春玲等，2017）。该检测方法具有良好的稳定性和可靠性，提取工艺稳定。

本研究采用体外产生活性自由基系统，对金缕半枫荷多酚的抗氧化能力进行研究表明，金缕半枫荷多酚清除DPPH·自由基的 IC_{50} 与维生素C相当，清除羟自由基的 IC_{50} 比维生素C的还低，说明其抗氧化效果显著。体外抑菌试验结果表明，金缕半枫荷多酚对革兰氏阳性菌中的金黄色葡萄球菌和革兰氏阴性菌中的大肠杆菌都有较强的抑制作用。天然瑶药金缕半枫荷多酚具有较强的抗氧化活性，对常见的菌种具有明显的抑菌效果，具有较广的抗菌谱提示了金缕半枫荷具有良好的药用价值和开发前景。本文对金缕半枫荷多酚的超声提取工艺优化及其抗氧化，抗菌活性进行了初步研究，为开发天然瑶药金缕半枫荷资源提供了重要依据。

参考文献:

- FENG XZ, WU SG, WEI QQ, et al, 2017. Kinetics of DPPH· free radical scavenging activity of *Dictyota dichotoma* polysaccharides [J]. *Guihaia*, 2017, 37(5) : 647-652. [冯学珍, 伍善广, 韦啟球, 等, 2017. 网地藻多糖清除DPPH·自由基活性的动力学研究 [J]. *广西植物*, 37(5):647—652.]
- Floyd RA, Towner RA, He T, et al, 2011. Translational research involving oxidative stress and diseases of aging [J]. *Free Radical Biol Med*, 51(5): 931-941.
- Gonzalez N, Elissetche J, Pereira M, et al, 2017. Extraction of polyphenols from *Eucalyptus nitens* and *Eucalyptus globulus*: Experimental kinetics, modeling and evaluation of their antioxidant and antifungal activities [J]. *Ind Crops Products*, 109:737-745.
- HUANG DT, PANG SH, LIANG QP, et al, 2012. Research status of Yao medicine resources in Guangxi Province [J]. *J Med Pharm Chin Minorities*, 3: 68-69. [黄东挺, 庞声航, 梁琼评, 等, 2012. 广西瑶药资源的现状调查 [J]. *中国民族医药杂志*, 3: 68-69.]
- Kupfer R, Dwyer-Nield LD, Malkinson AM, et al, 2002. Lung toxicity and tumor promotion by hydroxylated derivatives of 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) and 2-tert-butyl-4-methyl-6-iso-propylphenol: correlation with quinone methide reactivity [J]. *Chem Res Toxicol*, 15(8):1106-1112.
- LU HX, WU ZL, LIANG WJ, et al, 2015. Chemical constituents from *Semiliquidambar cathayensis* roots [J]. *J Chin Med Mat*, 38(12):2543-2546. [卢海啸, 吴卓玲, 梁伟江, 等, 2015. 半枫荷根的化学成分研究 [J]. *中药材*, 38(12):2543-2546.]
- MIAO WL, ZHAO SQ, ZHANG JL, et al, 2017. Study on antibacterial activity and toxicity of main related substance in doxycycline hydrochloride [J]. *Chin J Pharm Anal*, 37(12):2202-2208. [缪文玲, 赵述强, 张锦

- 琳, 等, 2017. 盐酸多西环素主要有关物质体外抗菌活性及毒性的研究[J]. 药物分析杂志, 37(12):2202-2208.]
- Todaro L, Russo D, Cetera P, et al, 2017. Effects of thermo-vacuum treatment on secondary metabolite content and antioxidant activity of poplar (*Populus nigra* L.) wood extracts [J]. Ind Crops Products, 109:384-390.
- WEI CL, LU HX, SHI HM, et al, 2017. Extraction technology research on orthogonal excogitation to optimize the polyphenol of *Semiliquidambar cathayensis* [J]. J Yulin Norm Univ, 38(02):75-78. [韦春玲, 卢海啸, 施海敏, 等, 2017. 正交设计优选半枫荷多酚提取工艺研究[J]. 玉林师范学院报, 38(02):75-78.]
- WEI H, YAN XJ, YANG JW, et al, 2017. Determination of total phenols content and antioxidant capacity of walnut Leaf [J/OL]. Guihaia, 1-10. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20170706.1641.002.html>. [魏欢, 颜小捷, 杨建文, 等, 2017. 核桃叶多酚含量的测定和抗氧化能力的研究[J/OL]. 广西植物, 1-10. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20170706.1641.002.html>.]
- XIA YJ, SUN XM, ZHANG J, et al, 2014. Simultaneous determination of five polyphenolic substances in the leaves of olea europaea by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Anal Lab, 33(07):766-770. [夏雅俊, 孙小明, 张佳, 等, 2014. HPLC 法同时测定油橄榄叶中的 5 种多酚类化合物含量[J]. 分析试验室, 33(07):766-770.]
- XIE Q, WANG W, CHEN QX, 2014. Comparative study on three different methods for the determination of total phenolics in *Chinese olive* [J]. Food Sci, 35(08):204-207. [谢倩, 王威, 陈清西, 2014. 橄榄多酚含量测定方法的比较[J]. 食品科学, 35(08):204-207.]
- YANG L, WANG YQ, LIU SZ, et al, 2016. Research progress of chemical constituents and pharmacological activities from three commonly used Ban-feng-he medicinal plants [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 22(22): 192-196. [杨丽, 王雅琪, 刘升长, 等, 2016. 三种常用半枫荷类药用植物的化学成分与生物活性研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志, 22(22): 191-196.]
- YANG WL, YAO ZS, LUO XQ, et al, 1999. Analgesic and anti-inflammatory effects of the ethanol extracts of jinlu ban fenghe (*Semiliquidambar cathayensis*) root [J]. Jiangxi Sci, 17(3):176-179. [杨武亮, 姚振生, 罗小泉, 等, 1999. 金缕半枫荷的镇痛和抗炎作用[J]. 江西科学, 17(3): 176-179.]
- ZHANG SY, ZHUANG YB, LUO LK, et al, 2017. Antioxidant and inhibitory effect on nitrosation of extracts from *Balanophora arlandii* [J]. Nat Prod Res Dev, 29(12):2081-2086. [张声源, 庄远杯, 罗铝铿, 等, 2017. 红冬蛇菰提取物抗氧化及抑制亚硝化作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 29(12):2081-2086.]
- ZHANG Y, WU YT, ZHENG W, et al. 2017. The antibacterial activity and antibacterial mechanism of a polysaccharide from *Cordyceps cicadae* [J]. J Funct Foods, 38:273-279.
- ZHOU GX, YANG YC, SHI JG, et al, 2002. Studies on chemical constituents from *Semiliquidambar cathayensis* [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 33(7): 589-591. [周光雄, 杨永春, 石建功, 等, 2002. 金缕半枫荷化学成分研究[J]. 中草药, 33(7):589-591.]
- ZHU YX, SONG H, ZHANG X, et al, 2017. Recovery of flavonoids from walnuts de-pellicle wastewater with macroporous resins and evaluation of antioxidant activities in vitro [J]. J Food Process Eng, 40(1):e12275.